

Aus dem Institut für Rechtsmedizin
der Universität Erlangen-Nürnberg
Direktor: Professor Dr. H.-B. Wuermeling

ÜBERPRÜFUNG DER REAKTION
ZUR QUANTITATIVEN BESTIMMUNG
VON ÄTHYLENGLYKOL IM SERUM
NACH HARGER UND FORNEY

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
der Medizinischen Fakultät
der Friedrich-Alexander-Universität
Erlangen-Nürnberg

vorgelegt von
Robert Oppel
aus Coburg

1980 № 407

Aus dem Institut für Rechtsmedizin
der Universität Erlangen-Nürnberg
Direktor: Professor Dr. H.-B. Wuermeling

ÜBERPRÜFUNG DER REAKTION ZUR QUANTITATIVEN BESTIMMUNG VON ÄTHYLENGLYKOL IM SERUM NACH HARGER UND FORNEY

Inaugural - Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde
der Medizinischen Fakultät
der Friedrich-Alexander-Universität
Erlangen - Nürnberg

vorgelegt von
Robert Oppel
aus Coburg

Gedruckt mit Erlaubnis der Medizinischen Fakultät
der Universität Erlangen-Nürnberg



Dekan: Prof. Dr. W. Kersten
Referent: Prof. Dr.Dr. M. Geldmacher-v. Mallinckrodt
Korreferent: Prof. Dr. H.-B. Wuermeling
Tag der mündlichen Prüfung: 20.10.1980

Inhaltsverzeichnis

Seite

1. Die chemischen und physikalischen Eigenschaften des Äthylenglykol und seine hauptsächlichste Verwendung	1
2. Vergiftungen mit Äthylenglykol	3
a) Toxizität	3
b) Stoffwechsel	4
c) Symptome und Verlauf	10
d) Anatomisch-pathologische Veränderungen	13
e) Therapie	18
3. Nachweismethoden für Äthylenglykol im Blut bzw. im Serum	24
4. Quantitative Bestimmung von Äthylenglykol im Blut nach HARGER und FORNEY (1959) bzw. KIVELA (1975) ..	27
5. Überprüfung der Methode	31
- Besonderheiten des Fuchsins	32
- Meßergebnisse	36
- Eichkurve	38
- Ermittlung der optimalen Messungszeit	40
- Spezifität	43
6. Diskussion	45
7. Literaturverzeichnis	48



Digitized by the Internet Archive
in 2026

1. Die chemischen und physikalischen Eigenschaften des Äthylenglykol und seine hauptsächliche Verwendung

Glykole sind zweiwertige Alkohole, die nach dem ersten Glied der Reihe, dem Äthylenglykol, im allgemeinen als Glykole bezeichnet werden (WIRTH, 1967).

Sie stehen in ihren Eigenschaften zwischen den einwertigen Alkoholen und dem wichtigen Vertreter der dreiwertigen Alkohole, dem Glyzerin, mit dem sie zum Teil den süßen Geschmack, die Wasserlöslichkeit u.a. teilen.

Aus der Reihe der Glykole seien nur die toxikologisch wichtigsten Vertreter erwähnt:

Diäthylen-Glykol ($\text{HOCH}_2\text{-CH}_2\text{-O-CH}_2\text{-CH}_2\text{OH}$),

1,4-Butandiol ($\text{HOCH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{OH}$),

Äthylenmonomethyläther (Methylglykol) ($\text{HOCH}_2\text{-CH}_2\text{-O-CH}_3$).

Äthylenglykol ($\text{HOCH}_2\text{-CH}_2\text{OH}$) wurde bereits 1856 von v. Würtzburg dargestellt und erhielt seine Bezeichnung, um seine Beziehung einerseits zum Alkohol und andererseits zum Glyzerin anzudeuten.

Es ist heute auch unter dem Namen Äthandiol (als Abkömmling des Äthans), Glysantin oder einfach Glykol bekannt.

Äthylenglykol ist eine klare, farblose, geruchlose Flüssigkeit, mit einem bittersüßen Geschmack. Beim Mischen mit Wasser entwickelt sich Wärme (ROSS, 1956). Ebenso produziert es ein Wärmegefühl, wenn es getrunken wird.

Es hat ein Molekulargewicht von 62,04, ein spezifisches Gewicht von 1,1166, einen Siedepunkt von $197,2^\circ \text{C}$, und einen Schmelzpunkt von -16°C (OETTINGEN und JIROUCH, 1931). In der

Industrie wird die durch ihre Hygroskopizität, Gefrierpunktniedrigung, Schlüpfrigkeit, Viskosität und Lösungsvermögen ausgezeichnete Flüssigkeit als Speziallösungsmittel, Hauptbestandteil der Frostschutzmittel "Glysantin" bzw. "Gesantin", als Schmiermittel in Kühlanlagen, Zusatz zu Polyesterharzen, Antischaummittel, im Textildruck, zur Großraumdesinfektion (Aerosole) und in der Kosmetik verwendet (LUDEWIG und LOHS, 1968).

Nach TROISI (1950) sind die Hauptanwendungen des Äthylenglykol in der Industrie: Als Elektrolyt für Kondensatoren, als Komponent in Kosmetika, als Lösungsmittel für Farbstoffe und als Vehikel für pharmazeutische Präparate und Lebensmittelextrakte. Oft wird es als Ersatz für Glyzerin angewendet.

2. Vergiftungen mit Äthylenglykol

a) Toxizität

Der erste Fall einer Äthylenglykolvergiftung wurde 1930 beschrieben. Seitdem nimmt die Zahl der Vergiftungen ständig zu (GALLYAS, 1971). In den USA ist Äthylenglykol für 40 bis 60 Todesfälle in jedem Jahr verantwortlich (AQUINO, 1972). Die meisten Vergiftungen ereignen sich durch Einnahme infolge Verwechslung, oder wenn versucht wird, damit das Äthanol zu ersetzen.

Die tödliche Dosis oral aufgenommenen Äthylenglykols liegt bei ca. 100 ml (MOESCHLIN, 1970).

Eine relativ seltene Art der Äthylenglykolvergiftung ist die nach rektaler Applikation anstelle von Glyzerin (WEDEMEYER, 1952).

Durch den Respirationstrakt aufgenommenes, verdampftes Äthylenglykol verursacht bis zu einer Konzentration von 140 mg pro Kubikmeter Luft keinerlei Organschäden, sondern nur starke Reizung des oberen Respirationstraktes, brennenden Husten, gelegentlich Kopfschmerzen, wie von WILLS (1974) anhand eines Experimentes mit 20 US-amerikanischen Strafgefangenen gezeigt wurde.

Nach SYKOWSKI (1951) verursacht Äthylenglykol am Auge ein Lidödem, Chemosis und akute Iridozyklitis.

Trotz oben geschilderter Toxizität und häufiger Verwendung in der Industrie existiert für das Äthylenglykol noch kein verbindlicher Richtwert für seine maximale Konzentration am

Arbeitsplatz (MAK - Wert - Tabelle von 1979).

b) Stoffwechsel

Eine Beschäftigung mit dem Metabolismus des Äthylenglykol ist wichtig, um die Pathogenese seiner Giftwirkung und die Behandlungsmethoden zu verstehen. Der Stoffwechsel beginnt in der Leber und der Niere mit der Oxidation zum Glykolaldehyd durch die NAD-abhängige Alkoholdehydrogenase (COEN, 1966). In kleinen Mengen kann auch Glyoxal durch dieses Enzym gebildet werden (GESSNER, 1961).

Glykolaldehyd wird dann durch mitochondrinale Aldehydoxidase zu Glykolsäure oxidiert, daraufhin durch Glykolsäureoxidase oder durch Laktatdehydrogenase zu Glyoxylsäure (siehe Abb.1).

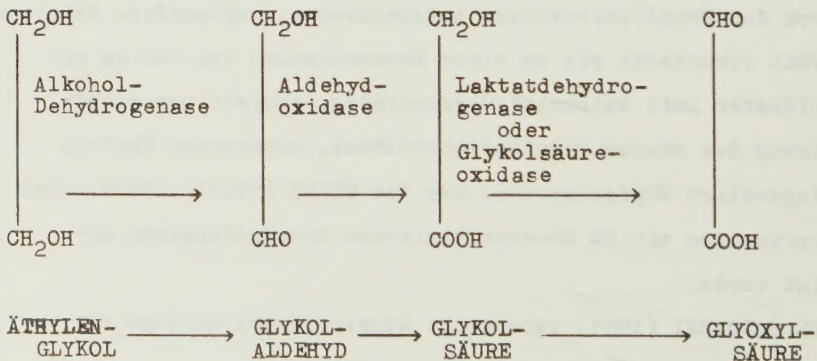


Abb.1: Stoffwechsel von Äthylenglykol a

Für den Glyoxylatmetabolismus gibt es eine Reihe von Stoffwechselwegen (SMITH, 1971):

1. eine reversible Transaminierung zum Glyzin durch eine Pyridoxalphosphat-abhängige Reaktion, die verschiedene Aminosäuredonatoren braucht;
2. eine irreversible Oxidation zu Oxalsäure hauptsächlich durch Laktatdehydrogenase aber auch durch Aldehydoxidase;
3. eine mögliche Dekarboxylierung durch Glyoxylatdekarboxylase zu Ameisensäure;
4. durch verschiedene Konjugationen (WILLIAMS, 1972) zu Oxalomalat, Alphahydroxibetaketoadipinsäure und Gamma-hydroxialphaketoglutarat (siehe Abb.2).

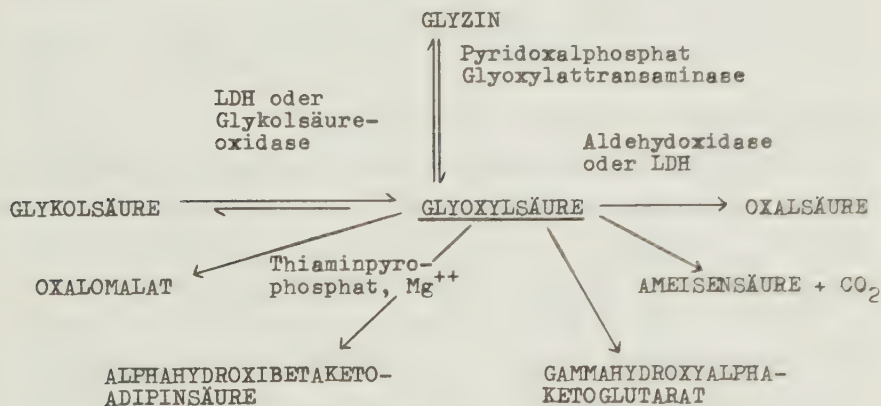


Abb.2: Stoffwechsel von Äthylenglykol b

Für den metabolischen Abbau von Äthylenglykol sind verschiedene Kofaktoren notwendig, darunter NAD (Nikotinamidadenindinukleotid), Pyridoxalphosphat, Thiaminpyrophosphat und Aminosäuren.

Äthylenglykol an sich scheint nicht giftig zu sein. Es hat keine Auswirkungen auf die Respiration, den Zitratzyklus oder andere biochemische Stoffwechselwege, solange es nicht metabolisiert ist, und indem man seinen Abbau aufhält, z.B. mit Äthanol oder Pyrazol kann man experimentell seine Toxizität reduzieren (BACHMANN, 1971).

Die Aldehydproduktion bildet die erste wichtige Metabolitengruppe des Äthylenglykol. Glykolaldehyd, Glykolsäure, Glyoxal und Glyoxylsäure können durch den Besitz ihrer Keto- und Aldehydgruppen in eine Zahl wichtiger biochemischer Reaktionen verflochten sein.

Die Inhibition der oxidativen Phosphorylierung, der Atmung und des Glukosemetabolismus kann der Aldehydakkumulation zugeschrieben werden (BACHMANN, 1971; LAMOTHE, 1971).

Aldehyde inhibieren die Proteinsynthese (KUN, 1952), die DNA-Replikation und die ribosomale RNA-Synthese (KLAMERTH, 1968). Sie reagieren mit allen Enzymen, die SH-Gruppen für ihre Aktivitäten brauchen, mit Kollagen und Aminogruppen an Proteinen (KUN, 1952; KLAMERTH, 1968; BOWES, 1968).

Die auffallenden zerebralen Symptome, die sechs bis zwölf Stunden nach der Einnahme von Äthylenglykol auftreten, fallen mit der größten Aldehydproduktion zusammen. Erst kürzlich ist für diese Aldehyde der spezifische Nachweis gelungen, daß sie das Atemzentrum im zentralen Nervensystem (LAMOTHE, 1971) und den Serotoninmetabolismus (DE BREYER, 1970) hemmen und den Aminosäurespiegel im zentralen Nerven-

system verändern (LABORIT, 1971).

Die zytotoxischen Auswirkungen dieser Aldehyde in Anbetracht der kardiovaskulären, renalen und zentralen Toxizität des Äthylenglykol sind nachgewiesen, aber noch nicht voll erforscht. Daß sie zur Morbidität und Mortalität der Äthylenglykolvergiftungen einen wichtigen Beitrag liefern, wurde durch neuere Forschungen bestätigt (MC CHESNEY, 1971).

Die Akkumulation der Oxalsäure machte man lange Zeit für den Großteil der klinischen Symptome der Äthylenglykolvergiftung verantwortlich. Oxalsäure selbst ist eine hoch toxische Verbindung, die ausgedehnte Nierenschäden, Azidose oder den Tod verursachen kann, wenn sie eingenommen wird. Während 5 ml Äthylenglykol, das Hunden verabreicht wird, wenig bewirkt, verursacht eine äquimolare Menge an Oxalsäure (7,2 g) den unmittelbaren Tod (WILEY, 1938).

Im Menschen beträgt die letale Dosis an Äthylenglykol ungefähr 2 ml/kg, diejenige der Oxalsäure 0,1 g/kg (BROWN, 1921).

In-vivo-Versuche an Ratten demonstrieren, daß der Hauptmetabolit des Äthylenglykol Kohlendioxid, die hauptsächlich ausgeschiedene Verbindung unverändertes Äthylenglykol ist und daß die Konzentration an Oxalsäure im Urin dosisabhängig ist (GESSNER, 1961; WILEY, 1938). Das bedeutet: mit steigender Substratkonzentration steigt die prozentuale Umwandlung zu Oxalsäure, wobei man die limitierende Dehydroxylierung und Transaminierung berücksichtigen muß (SAKADA, 1953).

Toxikologische Studien am Rhesusaffen (MC CHESNEY, 1971), bei dem die Auswirkungen der Äthylenglykoleinnahme denen am Menschen nahekommen sollen, erwiesen, daß die Plasma-Halbwerts-

zeit des Äthylenglykol 3 Stunden beträgt.

Bei Dosen von 1 ml/kg wurden 20 Prozent des verabreichten Äthylenglykoles unverändert im Urin aufgefunden; nur 1 Prozent wurde als Oxalsäure im 24-Stunden-Urin gefunden. Oxalat wird nicht signifikant metabolisiert, seine Elimination hängt größtenteils von der Nierenausscheidung ab. Den Äthylenglykolmetabolismus im Menschen zu klären war wegen der Toxizität dieser Substanz sehr schwierig. Aus Tierexperimenten und Studien am Menschen ist evident, daß die Oxalatakkumulation bei der Äthylenglykolvergiftung schwerwiegend ist. Für das Gesamtbild der Äthylenglykolvergiftung kann Oxalat jedoch nicht verantwortlich sein.

Bei der Verstoffwechselung eines jeden Alkoholes, einschließlich Äthylenglykol, wird Nikotinamidadenindinukleotid (NADH) durch Alkoholdehydrogenase, Aldehydoxidase und Laktatdehydrogenase gebildet. Die großen Mengen, die bei den Reaktionen mit Äthylenglykol gebildet werden können, ändern das Verhältnis NADH zu NAD grundlegend und führen zu einer Laktatazidose (OLIVA, 1970).

Es ist nachgewiesen, daß Äthylenglykol die Milchsäureproduktion in der Leber in stärkerem Maß steigert als Äthanol (NEWMAN, 1940). Dazu kommt, daß die Kondensationsprodukte des Glyoxylatmetabolismus direkt den Zitronensäurezyklus inhibieren (BACHMANN, 1971), wobei sie die Laktat- und Pyruvatproduktion steigern, während sie den Sauerstoffverbrauch, den aeroben Metabolismus und die Adenosintriphosphatproduktion mindern.

Pyridoxalphosphat ist ein essentieller Kofaktor bei der Transaminierung der Glyoxylsäure durch die Glyoxylattransaminase. Die Aktivität dieses Enzyms wird bei einem Mangel an Pyridoxin (Vitamin B₆) vermindert, woraus eine relative Präponderanz anderer Stoffwechselwege resultiert: Reduktion zu Glykolsäure und Oxidation zu Oxalsäure.

Experimentell ergibt sich bei Tieren mit künstlichem Pyridoxinmangel eine erheblich gesteigerte Oxalurie, welche renale Tubuläre Nekrosen verursacht (FREDERICK, 1963).

Im Gegensatz dazu können große Dosen Pyridoxin, welche normalen Versuchstieren gegeben werden, die Oxalatausscheidung im Urin vermindern (GIBBS, 1970). So kann bei einer Äthylenglykolvergiftung, bei welcher die Glyoxylatkonzentration erheblich gestiegen sein muß, eine weitere Steigerung der Oxalatproduktion resultieren, da die Verfügbarkeit des Körpers an Vitamin B₆ begrenzt ist.

Ähnliche Überlegungen gelten für die Funktion des Thiaminpyrophosphates und seine Rolle als Kofaktor bei der Bildung der Alphahydroxybetaketoadipinsäure durch die Thiaminpyrophosphat-abhängige Karboligase (WILLIAMS, 1968).

Es sind also sowohl die Steigerung der Milchsäureproduktion als auch die Konsumtion der Kofaktoren in der Lage, signifikant zu der Toxizität des Äthylenglykol beizutragen. Denkbar ist, daß erst dies die Unterbrechung des normalen zellulären Metabolismus ermöglicht, die Aufrechterhaltung der hohen Aldehydkonzentrationen zuläßt und außerdem die Oxalatproduktion steigert.

c) Symptome und Verlauf

Der klinische Verlauf der Vergiftung kann sich in drei recht unterschiedlichen Stadien abwickeln (FRIEDMANN, 1962). Die Gefahr in diesen Stadien und ihr Fortschreiten von einem ins andere hängen zum großen Teil von der eingenommenen Menge ab.

Am Anfang sind Manifestationen im zentralen Nervensystem vorherrschend, die gewöhnlich von einer schweren metabolischen Azidose begleitet werden. Nach den ersten 12 bis 18 Stunden können Herzversagen und eine pulmonale Insuffizienz die Oberhand gewinnen. Schließlich, etwa 36 bis 48 Stunden nach Einnahme größerer Äthylenglykolumengen, wird das Nierenversagen zum größten Problem.

I. Manifestationen im zentralen Nervensystem

Während der ersten 30 Minuten bis 12 Stunden nach der Einnahme größerer Mengen scheint der Patient betrunken zu sein, obwohl jeglicher Äthanolgeruch in seinem Atem fehlt. Übelkeit und Erbrechen kommen vor. Bei großen Dosen folgen schon Stunden nach der Einnahme Koma, Konvulsionen und Tod.

In den frühen Stadien liegen oft eine milde Hypertonie, Tachykardie und subfebrile Temperaturen vor. An den Augen lassen sich Nystagmus, Ophtalmoplegie, Pupillenödem und darauffolgende Sehschwäche beobachten (AHMED, 1971). Abgeschwächte Reflexe, generalisierte oder fokale Anfälle, myoklonische Zuckungen und tetanische Kontraktionen können folgen. Der Befund im liquor cerebrospinalis ähnelt dem bei Meningoenzephalitis.

Laboruntersuchungen in diesem Stadium ergeben eine leichtere Leukozytose (10 000 bis 40 000/mm³) mit Überwiegen von polymorphkernigen Leukozyten und einem normalen Hämatokrit. Das Serumbikarbonat beträgt oft weniger als 10 mÄqu/l, ein Anionenmangel von mehr als 20 kommt meistens vor, und eine Hyperkaliämie, die zur Azidose hinzukommt, wird oft beobachtet.

Die Azidose bei Äthylenglykolvergiftung wurde anfangs allein der Oxalsäure zugeschrieben. Aber das ist unwahrscheinlich, da weniger als 3% des Äthylenglykol zu Oxalsäure umgebaut werden. PARRY und WALLACH (1974) fanden, daß zum größeren Teil Laktat und andere organische Säuren für die Azidose verantwortlich sind.

Ein anderer häufiger Befund ist eine Hypokalzämie, die auf Chelatbildung des Kalziums mit Oxalat zu relativ unlöslichen Kalziumoxalatkristallen zurückgeführt wird. Allein die Hypokalzämie kann schon schwer genug sein, um Tetanie und Herzversagen auszulösen. Das Ausmaß der Zellschädigung durch die intrazelluläre Chelatbildung des Kalziums mit Oxalat ist noch nicht geklärt.

Die Urinanalyse zeigt ein anfänglich niedriges spezifisches Gewicht mit Proteinurie, mikroskopischer Hämaturie, Pyurie und Zylindrurie. Die starke Kristallurie wird in erster Linie durch Kalziumoxalatkristallen verursacht, obwohl auch von Hippursäurekristallen berichtet wurde (HAGEMANN und CHIFFELLE, 1948). Eine gesteigerte Ausscheidung von Hippursäure im Urin ist nicht verwunderlich, da eine gesteigerte

Transaminierung von Glyoxylat zu Glyzin stattfindet und das Glyzin in der Leber mit Benzoesäure über Benzoyl-CoA zu Hippursäure konjugiert wird.

II. Kardiopulmonales Versagen

Nach dem beginnenden Koma können Symptome kardiopulmonalen Versagens vorherrschen. Tachypnoe, Tachykardie, leichte Hypertonie und Zyanose sind häufige Befunde.

Bei schwerer Äthylenglykolvergiftung kommen Lungenödeme, Bronchopneumonie, Herzmuskeldilatation und Einflußstauung vor.

Der Tod infolge kardiopulmonaler Insuffizienz kann 24 bis 72 Stunden nach Einnahme des Giftes eintreten, aber in der neueren Literatur wird über fatale Ausgänge in diesem Stadium kaum berichtet, vielleicht aufgrund der raschen Erkennung und Korrektur der Azidose und Hypokalzämie.

III. Nierenversagen

Überlebt der Patient die ersten 24 bis 72 Stunden, kann Nierenversagen verschiedener Schweregrade das Hauptproblem werden. Oxalurie wird in den meisten Fällen schon kurz nach der Gifteinnahme festgestellt. Der Nierenschaden kann von einer leichten Zunahme des Blutharnsäurestickstoffs und Kreatinins mit spontaner Erholung bis zu kompletter Anurie variieren (BERMANN, 1957). Letztere Situation, dazu das Bild einer akuten tubulären Nekrose, wird in vielen Fallbeispielen erwähnt. Oligurie tritt innerhalb 12 Stunden nach Einnahme von Äthylenglykol ein und kann bis zu 50 Tagen andauern (COLLINS, 1970; SEEFF, 1970).

Bei angemessener Therapie zur Unterstützung der Nierenfunktion kann man deren völlige oder annähernde Wiederherstellung erwarten.

Der nach Myalgie festgestellte erhöhte Kreatininphosphokinasespiegel kann Muskelnekrosen repräsentieren, doch kann eine Beteiligung des zentralen Nervensystems dabei nicht ausgeschlossen werden (FRIEDMAN, 1962).

d) Anatomisch-pathologische Veränderungen

I. Zentrales Nervensystem

Bei Fällen mit tödlichem Ausgang innerhalb 72 Stunden erscheint das Gehirn grob ödematös und hyperämisch, mit petechialen Blutungen. Die histologische Untersuchung zeigt eine Chromatolyse der Betz'schen und Purkinje'schen Zellen mit Anzeichen einer Meningoenzephalitis (PONS, 1946; HAGEMANN, 1948).

Das einzige sichere Zeichen der Äthylenglykolvergiftung ist die Anwesenheit von Kalziumoxalatkristallen im Gehirn, in den Leptomeningen, Gefäßwänden und perivaskulären Räumen, wodurch sie sich auch z.B. von der primären Hyperoxalurie unterscheidet; bei dieser gibt es keine Kalziumoxalatablagerungen im Gehirn.

Die Signifikanz einer zerebralen Oxalosis in der Ätiologie der Symptome des zentralen Nervensystems ist strittig. PONS und CUSTER (1946) nahmen an, daß die Symptome des zentralen Nervensystems auf die Oxalsäure zurückzuführen sind, da ent-

zündliche Veränderungen um die Kristallablagerungen im Gehirn gefunden wurden. Neuere anatomische Untersuchungen ergaben, daß entzündliche Reaktionen mehr diffus verteilt als gerade neben den Kristallen lokalisiert sind.

Andere Autoren glaubten, weit gestreute Schäden an den Kapillaren stellten die primären Läsionen bei einer Äthylenglykolvergiftung dar (HAGEMANN, 1948), und der Beginn der Symptome innerhalb von 30 Minuten nach der Einnahme sei auf einen direkten Effekt des Äthylenglykol auf das zentrale Nervensystem zurückzuführen (LEVY, 1960).

Neuere physiologische Studien (LAMOTHE, 1971; LABORIT, 1971) zeigen, daß die Aldehydmetaboliten des Äthylenglykol dann in ihrer höchsten Konzentration vorliegen und diese zum großen Teil zu den Symptomen beitragen, wenn die Symptome des zentralen Nervensystems 6 bis 12 Stunden nach der Einnahme äußerst schwerwiegend sind.

Resultate aus Studien mit Äthylenglykol bei Tieren haben die relativ frühe Ausbildung von intrazerebralen Kalziumoxalatkristallen bestätigt, sowohl in den Gefäßen als auch in deren benachbarten Geweben (BOVE, 1966; ROBERTS, 1969). Jedoch zeigten Ratten, denen kleine Dosen von Äthylenglykol chronisch verabreicht wurden, zerebrale Oxalatablagerungen ohne Symptome von Seiten des zentralen Nervensystems; Ratten, die mit Glykol- und Glyoxylsäure behandelt werden, können extreme Symptome von Seiten des zentralen Nervensystemes in Abwesenheit von Kristallen aufweisen (BOVE, 1966).

Auf der Basis dieser Untersuchungen scheint es so, daß die Symptome von Seiten des zentralen Nervensystems auf die direkten toxischen Effekte des Äthylenglykol und seiner Metaboliten Glykolaldehyd, Glykolsäure, Glyoxylsäure und vielleicht Oxalsäure zurückzuführen sind. Außerdem kann ein zerebrales Ödem aufgrund zytotoxischer Schäden und Kalzium-oxalatablagerungen die Funktion des Gehirnes bei schweren Fällen von Äthylenglykolvergiftung stark beeinträchtigen.

II. Kardiopulmonale Pathologie

Den Tod in diesem Stadium begleiten Lungenödem, Bronchopneumonie und Herzmuskeldilatation. Weit verbreitete petechiale Blutungen in Pleura, Lunge, Herz und Perikard wurden beobachtet, zusammen mit degenerativen Veränderungen des Myokard (FIREDMAN, 1962; HAGEMANN, 1948). Die anatomischen Befunde korrelieren mit der Tachykardie und dem persistierenden ventrikulären Galopprrhythmus, der bei Vergiftungen beobachtet wird.

Die Pathophysiologie hierbei ist jedoch noch unerforscht und die Beziehung zwischen der Toxizität des Äthylenglykol, derjenigen des Aldehyd oder der der Oxalsäure ist noch nicht voneinander abzugrenzen.

III. Renale Pathologie

Nach der Einnahme von Äthylenglykol ist eine Nierenschädigung mikroskopisch innerhalb von 72 Stunden nachweisbar. Eine histologische Überprüfung zeigt dilatierte proximale Tubuli mit degenerierten Epithelien und intratubuläre Kristalle.

Das Vorliegen dieser Kristalle in großer Anzahl ist fast pathognomonisch für Äthylenglykolvergiftungen (ähnliche Veränderungen, nämlich bilaterale Kalziumoxalatsteinbildung und Nephrokalzinose, finden sich bei der autosomal rezessiv vererblichen Oxalose Typ I und II).

Die Kristalle sind hellgelb und in Rollen, Rosetten oder Prismen angeordnet. Auch intrazelluläre Kristalle, meist in Epithelzellen der proximalen Tubuli, wurden beobachtet (ROSCHER, 1971). Gewöhnlich degenerieren auch die distalen Tubuli, obwohl weniger betont, und beachtlich sind auch interstitielle Entzündungsherde und Ödeme. Glomeruläre Schäden sind nicht auffallend.

Die Möglichkeit, das Überleben mittels Dialyse zu verlängern, schaffte die Gelegenheit, Serienbiopsien herzustellen, die die allmähliche Heilung der tubulären Läsionen aufzeigen (COLLINS, 1970; SEEFF, 1970; GUTMANN, 1970; FLANAGAN, 1964).

Die renale Funktion normalisiert sich bei den meisten Patienten trotz des Bestehenbleibens intratubulärer Kristalle. Gelegentlich kann die renale Insuffizienz persistieren. In einem Fall dokumentierten sequentielle Biopsien eine Tubulusatrophie mit progressiver interstitieller Fibrose und permanenter renaler Insuffizienz (GUTMANN, 1970).

Wenn auch die renale Toxizität der Oxalsäure erkannt ist, wurde doch die Rolle der Kalziumoxalatkristalle bei den Nierenschäden durch Äthylenglykol in Frage gestellt. Man nahm an, daß Oxalatkristalle nur zufällig zu dem primären Problem des

interstitiellen Ödems mit dem darauffolgenden Stillstand des intrarenalen Blutflusses hinzukommen (DUNN, 1924).

Andererseits hielt es LEVY (1960) für denkbar, daß "Oxalat durch die Zellen der pars contorta der proximalen Tubuli sezerniert wird und intrazelluläre essentielle divalente Metalle, Kalzium und Magnesium bindet, was zur Zellnekrose führt". Doch zeigen Affen, die mit kleinen Dosen Äthylenglykol vergiftet wurden, verminderte renale Funktion und tubuläre Schäden in Abwesenheit von Kalziumoxalatkristallen (ROBERTS, 1969), und Seriennierenbiopsien von Patienten beweisen Heilung in Anwesenheit der Kristalle (SEEFF, 1970).

Glykolaldehyd, Glykolsäure und Glyoxylsäure verursachen nur eine minimale bis mäßige renale Oxalose in Ratten, doch verursachen sie signifikante tubuläre Schäden und beweisen damit, daß das Nierenversagen teilweise ihren direkten toxischen Wirkungen zugeschrieben werden kann. Die Rolle der Kalziumoxalatkristalle in der Pathogenese der renalen Läsion scheint weniger wichtig zu sein als die zytotoxischen Auswirkungen der anderen Metaboliten des Äthylenglykol. Was auch das stärkere Toxin sein mag, jedenfalls resultiert ein beträchtliches renales Ödem, welches, wie bei anderen Arten nephrotoxischer renaler Krankheiten, den intrarenalen Blutfluß stilllegt und Nierenversagen produziert (PARRY, WALLACH, 1974).

IV. Pathologische Veränderungen anderer Organe

Obwohl Gehirn, Herz, Lunge und Niere die primären Zielorgane für die Äthylenglykoltoxizität zu sein scheinen, können auch

andere Organe beteiligt sein (KAHN, 1950).

Kalziumoxalat kann sich entlang der Blutgefäße des ganzen Körpers ablagern. Dies geschieht meist in der Media kleiner Arterien und Arteriolen, wobei Ödeme in den Gefäßwänden entstehen können, die zu Ischämie führen (PARRY, WALLACH, 1974).

Das häufige Vorliegen einer interstitiellen Myositis, meist ohne bemerkenswerte Kalziumoxalatkristallation, paßt zu den klinischen Symptomen der Muskelschwäche und des erhöhten Kreatininphosphokinasespiegels.

Petechiale Blutungen in den Gastrointestinaltrakt erklären das oft gesehene blutige Erbrochene (LEVY, 1960). Größere gastrointestinale Blutungen sind nicht bekannt.

Die Leber neigt zu keinen größeren Schäden, es wurden jedoch schon zentrale hydropische Degenerationen beobachtet (PARRY, WALLACH, 1974).

e) Therapie

Die Soforttherapie besteht in künstlich herbeigeführtem Erbrechen, wenn nicht schon spontan erbrochen wurde, und anschließender Magenspülung mit Kaliumpermanganatlösung 1 : 5000 (FRIEDMAN, 1962; BROWNING, 1965; HABBERTY, 1959).

LUDEWIG und LOHS (1968) empfehlen bei der Magenspülung Zusatz von Aktivkohle und anschließend (nicht mehr nach Eintritt von Resorptionerscheinungen) als Laxans Natrium sul-

furicum (1 Eßlöffel auf 1 Liter lauwarmes Wasser).

Dieselben Verfasser, sowie HAGGERTY (1959), erwähnen O₂-Beatmung gegen die Schädigung des Zentralnervensystems, vor allem dann, wenn noch Atemstörungen auftreten, Kontrolle des Elektrolyt- und Wasserhaushaltes durch Bestimmung der Harnmenge, des Rest-N, Serumkalziums usw. und dessen Korrektur durch Infusionstherapie.

In bedrohlichen Zuständen soll eine Peritonealdialyse oder Hämodialyse erfolgen (LUDEWIG und LOHS, 1968). Die gleiche Therapie bei Zeichen einer Niereninsuffizienz empfehlen auch andere Verfasser (MOESCHLIN, 1964; FRIEDMAN, 1962; LEVY, 1960; BROWNING, 1965; JOLY, 1967).

"Vor allem bei subakutem Verlauf ist Möglichkeit und Zeit für planvolle therapeutische Maßnahmen vorhanden, wobei unseres Erachtens die Indikation zur Anwendung der 'künstlichen Niere' gegeben ist, von der man nicht nur eine Entlastung des Organs, sondern auch eine Überbrückung der toxisch-zerebralen Symptome und die Verhinderung zusätzlicher urämischer Hirnschäden erwarten darf" (BOLTZ, 1962).

Über die erfolgreiche Anwendung der künstlichen Niere berichtet auch HAGSTAM (1965) in dem von ihm beobachteten Fall einer Äthylenglykolvergiftung eines zehnjährigen Knaben, der 100 bis 150 ml eines Frostschutzmittels zu sich nahm und eine schwere Schädigung des Gehirns und der Niere zeigte. Dreimal (a. 4., 7. und 9. Behandlungstag) wurde eine Hämodialyse unternommen, und der Junge konnte so nach einer 28-

tägigen Behandlung gerettet werden.

Der Verfasser meint, daß, da die Mortalität solcher Vergiftungen groß ist und andere spezifische Behandlungsmethoden fehlen, man die Hämodialyse unbedingt in solchen Fällen anwenden müsse, wo die eingenommene Giftmenge sich der letalen Dosis nähert, oder die aufgenommene Äthylenglykolmenge nicht bekannt sei, und schwere Vergiftungssymptome frühzeitig aufträten.

Zur Bekämpfung der Azidose empfehlen BROWNING (1965), FRIEDMAN (1962) und LUDEWIG und LOHS (1968) die parenterale Zufuhr von Natriumkarbonat oder Laktat. Dieselben Verfasser warnen vor der Anwendung kaliumhaltiger Lösungen ohne Kontrolle, denn Kalium hemme die Diurese, und erwähnen noch die Kreislaufunterstützung.

LEVY (1960) unterstützt nicht die Meinung, daß Kalzium oder Parathormon Erfolg bei der Behandlung haben könne, weil ihre Anwendung eine Hypokalzämie voraussetze, die im Gegensatz zu der Oxalsäurevergiftung kein frühes klinisches Symptom bei der Äthylenglykolvergiftung ist.

Dagegen empfiehlt MOESCHLIN (1964) in schweren Fällen wiederholte Gabe von 20 ml Kalziumglukonat (20%) i.v. . Außerdem empfiehlt derselbe Verfasser reichliche Flüssigkeitszufuhr zur Beschleunigung der Ausscheidung und Verdünnung der Konzentration des Äthylenglykol in den Nieren.

Kortikoide wirken der Schockneigung entgegen und reduzieren die Tendenz zu Gewebereaktionen im Gehirn und in den Nieren

(HAGSTAM, 1965; FRIEDMAN, 1962).

Gaben von Antibiotika, Gammaglobulinen und anabolen Hormonen erwähnt HAGSTAM (1965).

Bei Ateminsuffizienz empfiehlt JOLY (1967) Intubation und Künstliche Beatmung. Außerdem meint er, daß mit Erfolg Äthylalkohol verabreicht werden könne, da dadurch kompetitiv der Abbau des Äthylenglykols verzögert und die Bildung der giftigen Oxalsäure und der anderen Stoffwechselprodukte verhindert werde. Der Äthylalkohol wird als fünfprozentige Lösung in Glukose als Infusion gegeben, und zwar beim Erwachsenen 10 bis 15 ml pro Stunde.

Eine erfolgreiche Behandlung mit Äthanol als einem kompetitiven Inhibitor der Äthylenglykoloxydation durch die Alkoholdehydrogenase der Leber hat zur Voraussetzung, daß die eingenommene Dosis an Äthylenglykol gleich oder kleiner als seine tödliche Mindestmenge ist (6,6 bis 11 ml/kg) (BECKETT und SHIELDS, 1971; SANYER, 1973), oder daß mit der Äthanolinfusion 1 bis 2 Stunden nach der Einnahme begonnen wird, oder beides (SANYER, 1973; NUNAMAKER, 1971; BECKETT, und SHIELDS, 1971). Deswegen empfehlen VAN STEE und MUNDY (1974) die Anwendung von P y r a z o l.

Pyrazol und einige seiner Derivate sind potente Inhibitoren der Leber-Alkoholdehydrogenase und man überlegte sich, ob sie bei der Behandlung alkoholischer Vergiftungen einschließlich des Äthylenglykols nicht von Wert sein könnten (LI und THEORELL, 1969).

Daß diese Methode bei der Behandlung Äthylenglykolvergifteter effizient ist, solange sie mindestens 6 Stunden nach der Gifteinnahme angewandt wird, konnte VAN STEE (1974) an Hunden nachweisen. An Mäusen wurde dieses Konzept von MUNDY (1974) verifiziert.

Pyrazol inhibiert auch andere Leberenzyme wie das mikrosomale Äthanol oxidierende System und die Katalase (LIEBER, 1970).

Pyrazol ist jedoch keine unschädliche Verbindung, und der Gebrauch von Pyrazolderivaten wie 4-Brompyrazol vereinfacht das Problem nicht. Obwohl dieses ein potenterer Inhibitor der Leber-Alkoholdehydrogenase ist, ist seine Toxizität um einiges größer und seine Aktionsdauer kürzer (GOLDSTEIN und PAL, 1971).

In Verbindung mit einer Flüssigkeits-, Vitamin- und Steroidkompensation ist die Behandlung mit Pyrazol jedoch in der Hinsicht effektiver als die mit Äthanolinfusion, als sie bis 6 Stunden nach Gifteinnahme mit guter Hoffnung auf Erfolg angewandt werden und eine Heilung bis zu aufgenommenen Äthylenglykolenmengen von 12,5 ml/kg erfolgen kann (VAN STEE, 1974).

FRIEDMAN (1962) betont, daß das Wichtigste die Prophylaxe ist, indem man die Gefahr und die Toxizität dieses Frostschutzmittels nicht unterschätzt und es in den Originalbehältern aufbewahrt.

In Zusammenhang mit der Prophylaxe fordern auch KAHN und BROTHNER (1950), daß Gefäße, die Äthylenglykol in reiner Form oder in Lösung enthalten, mit der Aufschrift "GIFT" versehen werden sollen.

3. Nachweismethoden von Äthylenglykol im Blut bzw. Serum

Mit dem Anstieg der Äthylenglykolvergiftungen in den letzten Jahrzehnten wurden verbesserte Methoden zum schnellen Äthylenglykolnachweis im Blut der Vergifteten dringend notwendig. Mit dem Aufkommen der Gaschromatographie ist das Problem zwar weitgehend gelöst, doch da nicht jedes klinische Labor im Besitz eines Gaschromatographen ist, bleibt die Suche nach einem einfacheren, ebenso schnellen Nachweisverfahren gerechtfertigt.

Folgende Nachweismethoden fand ich in der Fachliteratur der letzten 40 Jahre:

a) Colorimetrische und photometrische Messungen

I. DESNUELLE und NAUDET, 1945

- Oxidation zu Formaldehyd mit Perjodsäure
- Farbreaktion (rot) nach Hinzufügen von Phenylhydrazin und Kaliumferrizyanid.

II. BRICKER und LEE, 1952

- Oxidation zu Formaldehyd mit Perjodsäure
- Farbreaktion nach Erhitzen mit Chromotropsäure

III. HARGER und FORNEY, 1959

- Oxidation zu Formaldehyd mit Perjodsäure
- Farbreaktion mit Schiff's-Reagenz
- gehorcht nicht dem Lambert-Beer'schen Gesetz

IV. RAJAGOPAL und RAMAKRISHNAN, 1975

- Oxidation zu Formaldehyd mit Perjodsäure
- Reduzieren des überschüssigen Perjodats mit Arsen
- Farbreaktion bei 100° C mit Chromotropsäure
(30 Min.)

- Messung bei 550 nm
- Konzentrationen bis 0,1 mg/100 ml können gemessen werden; Wiederfindungsrate von Äthylenglykol im Blut $100 \pm 2 \%$
- g e h o r c h t dem Lambert-Beer'schen Gesetz

b) Gaschromatographische Messung

I. PETERSON und RODGERSON, 1974

- Nachweis über den Dibenzoat-Ester des Äthylen-glykol
- Wiederfindungsrate $100 \pm 2 \%$

II. JAIN und FORNEY, 1975

- Direkte Einspritzung von Blut in eine polare Säule in einem Gaschromatographen, der mit einem Flammen-ionisationsdetektor ausgerüstet ist
- Wiederfindungsrate 95 - 100 % .

Die Wahl zwischen den verschiedenen Nachweisverfahren hat sich zu richten nach Gesichtspunkten der Spezifität, Präzision, Richtigkeit, Nachweisgrenze, des Zeitaufwandes, der Verfügbarkeit der dazu verwendeten Geräte und Chemikalien und des Kostenaufwandes.

Wir brauchen ein Verfahren, mit dem Äthylenglykol in den Konzentrationen erfaßt wird, in denen es klinisch relevant ist. Hierzu zeige ich eine Liste verschiedener Konzentrationsangaben von Äthylenglykol im Blut Vergifteter aus der Literatur; dabei ist zu berücksichtigen, daß die Methoden zur Bestimmung als auch die Zeitpunkte der Messung jeweils verschiedenen sind.

Äthylenglykol-Konzentrationen in menschlichem Blut nach
zum Teil tödlichen Vergiftungen:

BOLTZ (1962); 36 Stunden post mortem	:	21 mg/100 ml
HARGER u. FORNEY (1959); 6 Std. post ingestionem	:	423 mg/100 ml
"einige" Std. post ingestionem u. mortem	:	384 mg/100 ml
36 Std. post ingestionem u. mortem	:	24 mg/100 ml
GIROMINI (1964); 14 Std. post ing. u. mortem	:	102 mg/100 ml
MORIARTY (1974); ante mortem	:	32 mg/100 ml
post mortem	:	21 mg/100 ml
UNDERWOOS (1973); 4 Std. post ingestionem	:	145 mg/100 ml
PARRY (1974); 18 Std. post ingestionem	:	90 mg/100 ml
40 Std. post ingestionem	:	2,5mg/100 ml
RAJAGOPAL u. RAMAKRISHNAN (1974);		
18 Std. post ingestionem	:	56 mg/100 ml

Hiermit bewegt sich die zu messende Konzentration an Äthylen-
glykol im Blut in einem klinisch relevanten Bereich von ca.
10 mg/100 ml bis ca. 400 mg/100 ml.

4. Quantitative Bestimmung von Äthylenglykol im Blut nach HARGER und FORNEY (1959) bzw. KIVELA (1975)

Erstmals beschrieben wurde diese Methode 1959 von HARGER und FORNEY im "Journal of Forensic Sciences" unter dem Titel: "A simple method for detecting and estimating ethylene glycol in body materials: analytical results in six fatal cases."

Fast unverändert wiedergegeben wird sie 1975 von KIVELA, welcher sich auf HARGER und FORNEY beruft, in dem Buch "Methodology for Analytical Toxicology", Herausgeber I. SUNSHINE.

Prinzip: Das Oxidationsprodukt von Äthylenglykol (Formaldehyd) reagiert mit dem nach WRIGHT-ELVOVE modifizieren Schiff's Reagenz, was ein charakteristisch gefärbtes Produkt ergibt. Dessen Extinktion bei einem Absorptionsmaximum von 555 nm wird verwendet, um die Äthylenglykolkonzentration der Probe zu messen.

Untersuchungsmaterial: Blut

Geräte:

Zentrifugengläser mit Schliffstopfen, 20 ml

Pipetten, 0,25, 1,0, 5,0 und 10,0 ml

Reagenzgläser mit Schliffstopfen, 10 ml und 15 ml

Küvetten, 10 mm

Braune Flasche mit Schliffstopfen, 250 ml

Uhr oder Stoppuhr

Erlenmeyerkolben, 25 und 250 ml

Spektralphotometer mit 600 nm-Filter

Zentrifuge

Reagenzien: Alle Chemikalien sollten analysenrein sein.

1. Äthylenglykol-Stammlösung, 100 mg/100 ml

100 mg Äthylenglykol in Wasser lösen und auf 100 ml mit Wasser verdünnen.

2. Äthylenglykol-Vergleichslösungen (zur Herstellung der Standardlösungen)

7,0, 5,0, 3,0 und 1,0 ml der Äthylenglykol-Stammlösung auf 10 ml mit dest. Wasser verdünnen. Die resultierenden Lösungen haben Äthylenglykolkonzentrationen von 0,7, 0,5, 0,3 und 0,1 mg/ml (70, 50, 30 und 10 "mg%").

3. Natriumwolframat, 10 g/100 ml

10 g Natriumwolframat in Wasser lösen und auf 100 ml mit Wasser verdünnen.

4. Schwefelsäure, 0,67 N

1,86 ml konzentrierter Schwefelsäure (36 N) zu 80 ml dest. Wasser hinzufügen und mischen. Abkühlen lassen, dann auf 100 ml verdünnen.

5. Perjodsäure, 0,1 M

2,28 g Perjodsäure (H_5IO_6) oder 2,14 g Natriumperjodat (NaIO_4) in 0,67 N Schwefelsäure lösen und auf 100 ml mit der Säure verdünnen.

6. Basisches Fuchsin, kristallin

7. Natriummetabisulfit ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$)

8. Konzentrierte Salzsäure

9. Schiff's Reagenz

In einem 250 ml-Erlenmeyerkolben 120 ml Wasser fast bis

zum Kochen erhitzen, 0,2 g basisches Fuchsin hinzugeben. Nach Lösung des Farbstoffes Abkühlen des Kolbeninhaltes auf Raumtemperatur unter fließendem Wasser. 2 g Natriummetabisulfit in 20 ml Wasser lösen und diese Lösung zur abgekühlten Fuchsinlösung hinzufügen. 2 ml konzentrierte Salzsäure und 60 ml Wasser in den Kolben geben, durchmischen, dann die Mischung filtrieren. Das Reagenz ist in einer braunen Flasche mit Schliffstopfen im Kühlschrank aufzubewahren.

Arbeitsvorschrift:

1. 1 ml Blut mit 7 ml Wasser in einem 25 ml-Erlenmeyerkolben mischen. 1 ml jeder Vergleichslösung (als Standard) und 1 ml Wasser als Blindansatz (Leerwert) in der gleichen Weise behandeln wie die Probe.
2. 1 ml der Natriumwalframatlösung in jeden der 6 Kolben geben.
3. Unter kräftigem Schütteln 1 ml 0,67 N Schwefelsäure tropfenweise zu jeder Lösung geben. Die Kolben verschließen und gut schütteln.
4. Die Inhalte der Kolben in 15 ml-Reagenzgläser filtrieren.
5. Je 1 ml jedes Filtrates in ein 10 ml-Reagenzglas geben; 4 ml Wasser hinzufügen.
6. Jedem Glas 0,25 ml des Perjodsäure-Reagenz' hinzufügen und mischen. Dann die Mischungen 10 Minuten lang stehen lassen.
7. Jedem Glas 2,0 ml des Schiff's Reagenz beifügen und mischen; die Mischungen 25 Minuten stehen lassen.

8. Es wird die Extinktion der Produkte, die man aus der Testsubstanz und aus jeder Vergleichslösung gewonnen hat, bei 555 nm bestimmt, wobei der gleichbehandelte Ansatz mit Wasser als Leerwert genommen wird.

Die Konzentration an Äthylenglykol in der Blutprobe wird durch direkten Vergleich ihrer Extinktion mit der des Standards bestimmt.

5. Überprüfung der Methode

Alle Geräte und Reagenzien wurden verwendet, wie bei KIVELA (1975), entsprechend den Angaben auf den vorherigen Seiten, angegeben.

Als Photometer hatte ich zur Verfügung ein

- SHIMADZU Double Beam Spectrophotometer UV-200, dazu
- Küvetten, 1,000 OS
- alle Chemikalien, analysenrein, von der Firma MERCK
- "Monovetten" mit Heparin granula, 10 ml
- Kanülen zur Venenpunktion

Für das Versetzen des Blutes mit Äthylenglykol fertigte ich eine Äthylenglykol-Stammlösung in Wasser in einer Konzentration von 10 mg/ml; davon nahm ich je 0,05; 0,15; 0,25; 0,35 und 0,5 ml, gab dazu Blut ad 5 ml, was Äthylenglykolkonzentrationen im Blut von 0,1; 0,3; 0,5; 0,7 und 1,0 mg/ml ergab.

Das Blut gewann ich durch Venenpunktion von vier verschiedenen Personen. Es wurde mit Heparin ungerinnbar gemacht, im Kühlschrank aufbewahrt und nicht länger als bis 5 Tage nach der Blutentnahme verwendet.

Als einzige Abweichung der Angaben von KIVELA, bei seiner Arbeitsvorschrift unter Punkt 4 beschrieben, benutzte ich keinen Filter, sondern eine Zentrifuge, nahm also bei Punkt 5 nicht 1 ml des Filtrates, sondern 1 ml des Überstandes; außerdem fertigte ich bei der Äthylenglykol-Verdünnungsreihe zusätzlich eine Lösung in einer Konzentration von 1,0 mg/ml.

Ich filtrierte auch nicht bei der Herstellung des Schiff's Reagenz, wie es KIVELA unter Punkt 9 der "Reagenzien" beschreibt; doch damit hat es eine besondere Bewandtnis:

Besonderheiten des Fuchsins

Zu den Versuchen mußte ich dreimal Schiff's Reagenz ansetzen. Dazu verwendete ich zuerst ein mehrere Jahre altes grobkristallines Fuchsin aus dem Laborlager des Institutes für gerichtliche Medizin, dann bestellte ich neues Fuchsin bei der Firma Merck mit der gleichen Artikelnummer 1356, welches pulverförmig war.

In folgenden Eigenschaften unterscheiden sich das "alte" und das "neue" Fuchsin:

Mit dem alten verhielt sich das nach WRIGHT-ELVOVE modifizierte Schiff's Reagenz wie bei HARGER und FORNEY (1959) beschrieben ("The solution should become practically clear in a few minutes"). Es brauchte also nicht filtriert zu werden. Eine leicht gelblichbraune Farbe verschwand nach Zugabe des Äthylenglykol enthaltenden Agens. Das Absorptionsmaximum lag, wie beschrieben, bei 555 nm (siehe Abb.3).

Das mit dem neuen Fuchsin hergestellte Schiff's Reagenz hatte eine dunkelbraune Färbung, die weder nach längerem Stehen noch nach stärkerer Ansäuerung mit Schwefelsäure verschwand. Da die beim Photometrieren zu verwendende Vergleichslösung (= Leerwert) auch braun gefärbt ist, ist dieser Umstand kaum von Bedeutung; es zeigte sich dann allerdings, daß das Absorptionsmaximum bei dem mit dem neuen Fuchsin hergestellten Schiff's Reagenz bei 560 nm lag (siehe Abb.4).

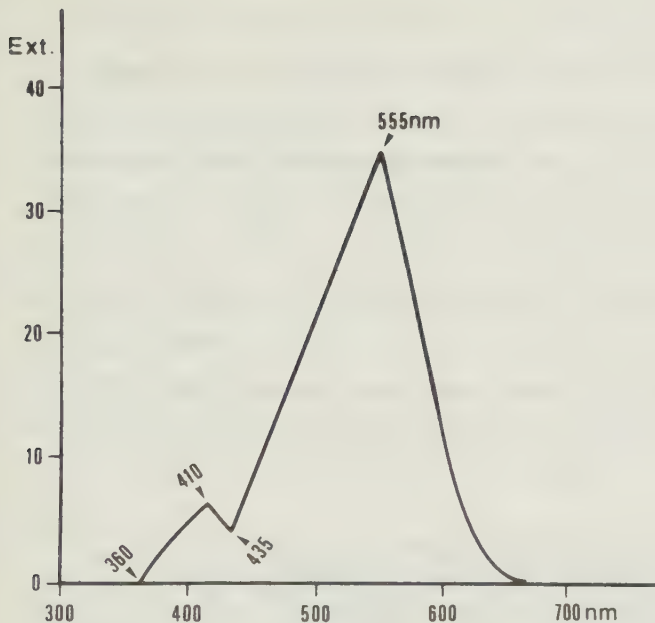


Abb. 3: Absorptionsmaximum des Schiff's Reagenz

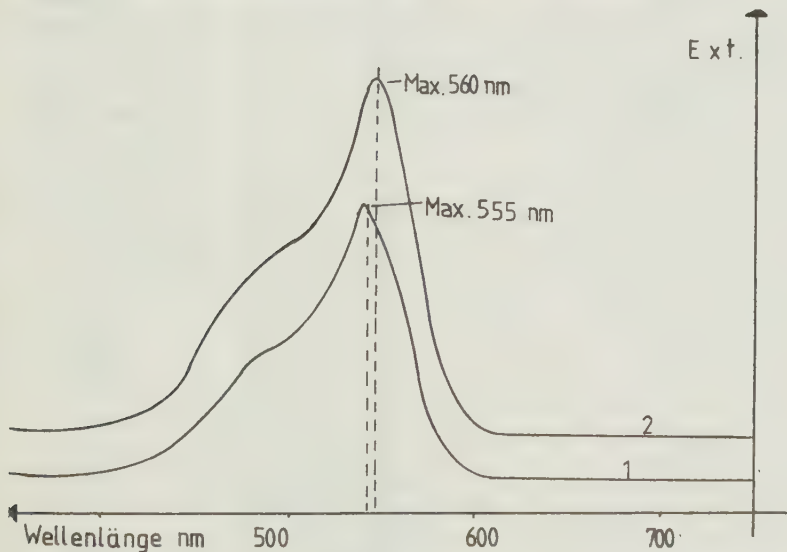


Abb. 4: Verschiedene Absorptionsmaxima des Schiff's Reagenz bei Verwendung 1. des "alten" und 2. des "neuen" Fuchsin

Die Kurve 1 (unten) stellt das Absorptionsspektrum eines Reagenz mit dem alten, grobkristallinen Fuchsin dar, die Kurve 2 (oben) das eines Reagenz mit dem neuen, pulverförmigen Fuchsin (MERCK - Art.1356), bei dem das Maximum um einen Querstrich nach rechts, das bedeutet fünf Extinktionseinheiten höher, verschoben ist.

Als weitere Komplikation entwickelt sich in der Meßzeit eine flockige Trübung (siehe Abb.5), die nach längerem Stehen als Niederschlag ausfällt. Dadurch wird eine genaue Extinktionsmessung unmöglich. Man müßte also vorher filtrieren oder zentrifugieren.

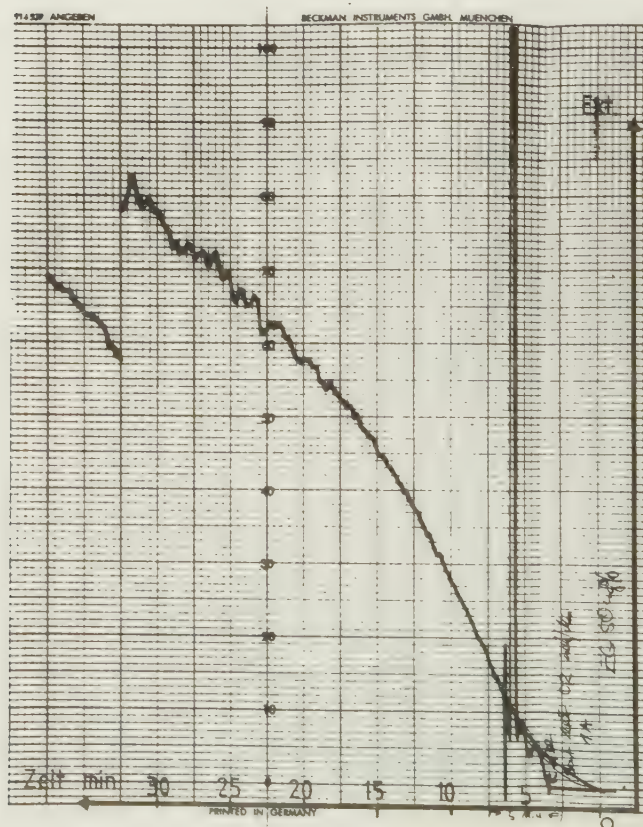


Abb.5:

Das mit dem neuen Fuchsin hergestellte Schiff's Reagenz reagiert mit einer Äthylenglykol enthaltenden Lösung in einer Konzentration von 50 mg/100 ml unter Ausbildung einer Trübung;

Messung:
30 Minuten

Zur Klärung all dieser Unstimmigkeiten zwischen dem alten, grobkristallinen und dem neuen, pulverförmigen Fuchsin wurde noch eine IR-spektrophotometrische Analyse durchgeführt (siehe Abb.6), wobei die Unterschiede zwischen den Spektren der beiden Substanzen jedoch so gering waren, daß man daraus nicht ihr unterschiedliches Verhalten bei der Verwendung zum Schiff's Reagenz ableiten kann,

Ich arbeitete dann bei allen Versuchen mit dem alten, grobkristallinen Fuchsin, das ich mir aus alten Lagerbeständen verschiedener Erlanger Labors zusammensuchte.

SCOTT (1945) beschrieb schon die relative Unzuverlässigkeit des Schiff's Reagenz, welche aus der verschiedenen Qualität des Fuchsins und der unterschiedlichen Herstellungsweise des Reagenz' resultiert.

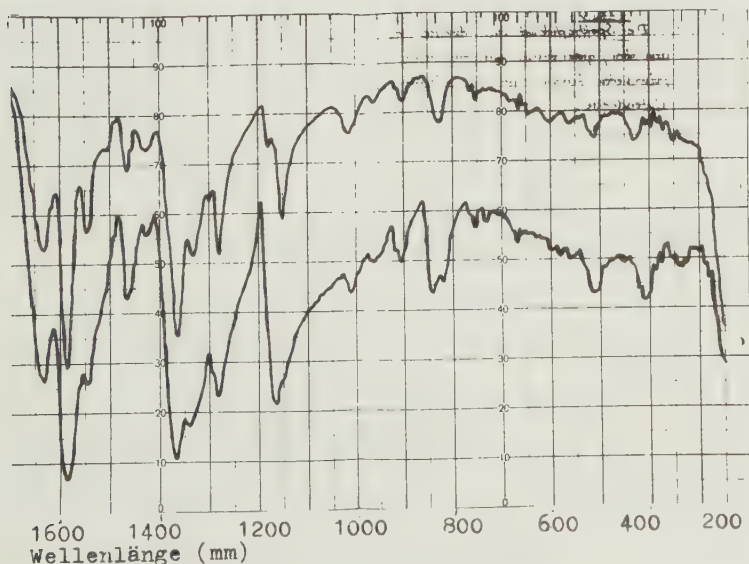


Abb.6: IR-Spektren des alten, grobkristallinen (unten) und des neuen, pulverisierten Fuchsins (oben).

Meßergebnisse

Nach der Überwindung von Anfangsschwierigkeiten (wie z.B. der richtigen Zusammensetzung und Fertigung des Schiff's Reagenz) führte ich je 18 Messungen an Blutproben und Vergleichslösungen durch, welche ich jeweils mit Äthylenglykol in Konzentrationen von 0,1, 0,3, 0,5, 0,7 und 1,0 mg/ml versetzte (siehe Tabelle I).

Gemessen wurde jeweils 25 Minuten nach Hinzugeben des Schiff's Reagenz, wie bei KIVELA (1975) angegeben.

In der folgenden Tabelle I sind die Mittelwerte, Standardabweichungen und Variationskoeffizienten von Äthylenglykolkonzentrationen im Standard und im Serum mit jeweils 10, 30, 50, 70 und 100 mg/100 ml bei 18 Messungen mit jeweils neuen Ansätzen wiedergegeben.

Tabelle I

Arithmetische Mittelwerte und Standardabweichungen für Äthylenglykol in verschiedenen Konzentrationen

Vergleichslösung (Standard)			
Konzentration	Mittelwert	Standardabw.	Variations-Koeffizient
10 mg/100 ml	0,031	0,012	38,7 %
30 mg/100 ml	0,192	0,045	23,4 %
50 mg/100 ml	0,409	0,076	18,6 %
70 mg/100 ml	0,685	0,129	18,8 %
100 mg/100 ml	1,160	0,245	21,1 %

mittlerer Variations-Koeffizient: 24,1 %

Serum			
Konzentration	Mittelwert	Standardabw.	Variations-Koeffizient
10 mg/100 ml	0,032	0,011	34,3 %
30 mg/100 ml	0,190	0,047	24,7 %
50 mg/100 ml	0,422	0,103	24,4 %
70 mg/100 ml	0,689	0,127	18,4 %
100 mg/100 ml	1,153	0,238	20,6 %

mittlerer Variations-Koeffizient: 24,5 %

Die Wiederfindungsrate von Äthylenglykol im Serum bei mitgeführten Standard beträgt 100 ± 6 % (bei KIVELA 100 ± 5 %).

Mit den Mittelwerten der Messungen der Standardlösungen fertigte ich eine Eichkurve (Abb.7).

Da die Mittelwerte der Messungen der Äthylenglykolkonzentrationen im Serum nur geringfügig von denen der Messungen der Standardlösungen (0,001 bis 0,013) abweichen, erübrigt sich

die Anfertigung einer gesonderten Kurve für die Serummes-
sungen, da die Kurven in unserem Maßstab fast identisch
und nicht mehr voneinander unterscheidbar sind.

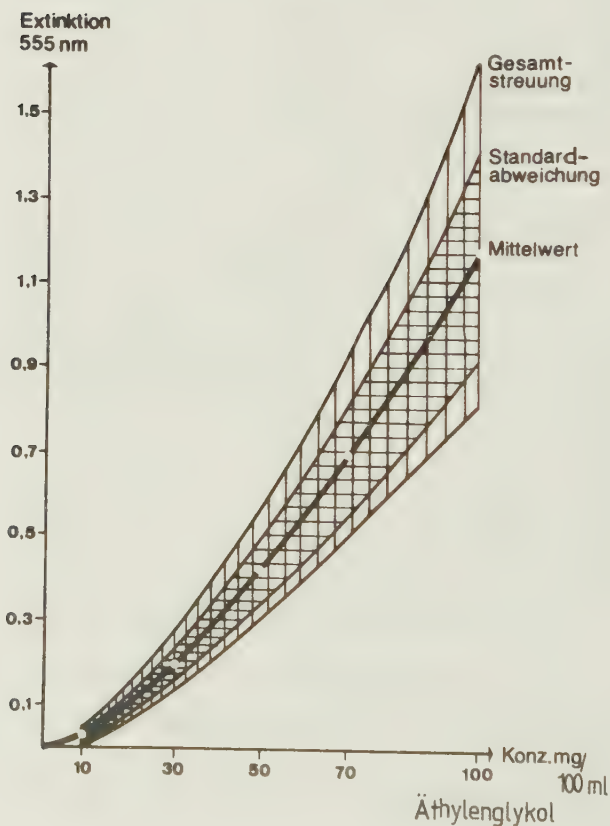


Abb.7: Eichkurve

Erläuterungen zu Abb.7:

Die Punkte auf der mittleren Kurve bedeuten die Mittelwerte

von je 18 Messungen mit Äthylenglykol in den Konzentrationen 10, 30, 50, 70 und 100 mg/100 ml, die waagrecht gestrichelte Fläche repräsentiert die Standardabweichungen dieser Messungen, die senkrecht gestrichelte Fläche die Gesamtstreuung aller Messungen (d.h. sämtliche ermittelten Werte liegen innerhalb dieser Fläche, keiner außerhalb davon).

Wie man in Abb.7 ersehen kann, verläuft die Kurve nicht nach dem Lambert-Beer'schen Gesetz, das heißt, ein Anstieg der Äthylenglykol-Konzentration verursacht einen proportional größeren Anstieg der Extinktion (nicht linear).

Man könnte zwar die Kurve nach einer mathematischen Funktion rechnerisch festlegen, so daß mit jeder beliebigen Extinktion die jeweilige Äthylenglykolkonzentration errechnet werden könnte; da jedoch aufgrund der Unzuverlässigkeit und jeweiligen Andersartigkeit des Schiff's Reagenz ein Standard mitgeführt werden muß, hätten wir nicht viel davon. Bei jedem neu verwendeten Schiff's Reagenz werden sich die Eichkurven ähneln, aber nie ganz gleich sein (Beispiel Abb.8).

Weiterhin ist Abb.7 zu entnehmen, daß Äthylenglykol mit unserer Methode quantitativ erfaßbar ist bis zu einer minimalen Konzentration von 10 mg/100 ml, die maximale dürfte bei 150 mg/100 ml liegen. Für die Messung höherer Konzentrationen müßte man dann entsprechend verdünnen.

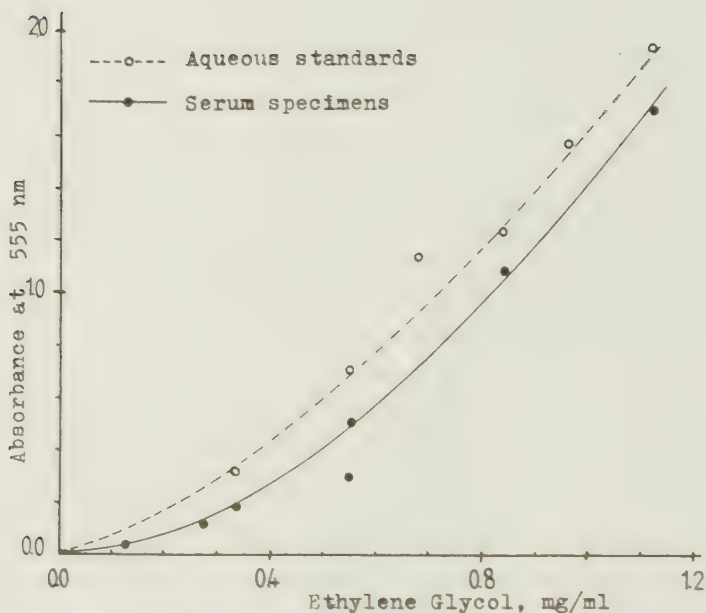


Fig. 3. Determination of ethylene glycol in serum

Abb.8: Eichkurve nach PETERSON und RODGERSON (1974)

Ermittlung der optimalen Messungszeit

Eine Messung der Extinktion in einem Ansatz mit Äthylen-glykol von 30 mg/100 ml über 90 Minuten zeigt, daß die Extink-tionszunahme nach 30 Minuten annähernd linear verläuft, um dann nach 50 Minuten wieder anzusteigen (siehe Abb.9).

So wäre der günstigste Meßzeitpunkt also nicht 25 Minuten nach dem Reaktionsansatz, wie bei HARGER und FORNEY (1959)

und bei KIVELA (1975) angegeben, sondern etwa 40 Minuten nach dem Ansetzen der Proben.

12 Messungen bei 3 verschiedenen Äthylenglykolkonzentrationen von 30, 50 und 70 mg/100 ml und einer Meßzeit 40 Minuten nach Ansatz ergaben einen um fast 10 % kleineren mittleren Variationskoeffizienten als bei den 18 Messungen mit der Meßzeit 25 Minuten nach Hinzugeben des Schiff's Reagenz (siehe Tabelle II).

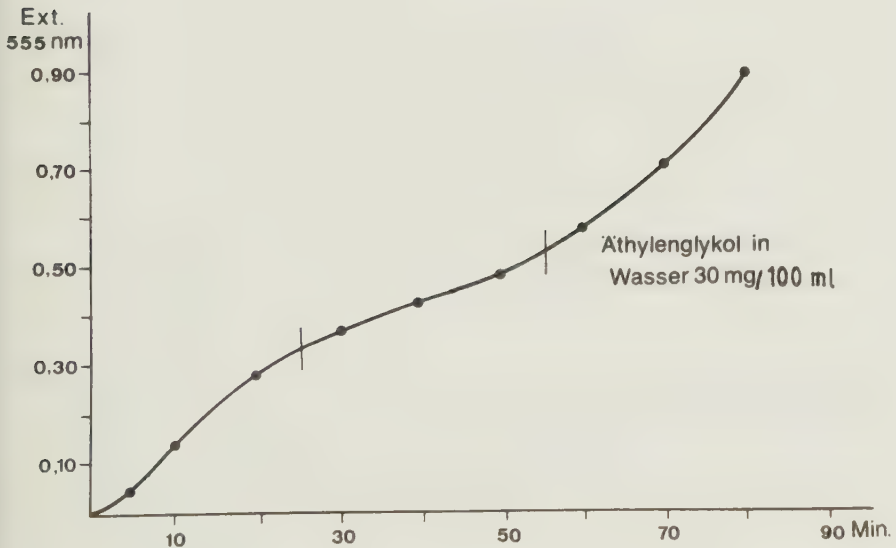


Abb.9: Verlauf der Extinktion in 90 Minuten

Tabelle III

Arithmetische Mittelwerte und Standardabweichungen bei
12 Messungen (Wartezeit 40 Minuten):

Konzentration	Mittelwert	Standardabw.	Var.-Koeff.
30 mg/100 ml	0,177	0,029	16,4 %
50 mg/100 ml	0,393	0,058	14,8 %
70 mg/100 ml	0,657	0,071	10,8 %

mittlerer Variationskoeffizient: 14 %

Spezifität der Methode

Überprüft wurden folgende Substanzen, weil sie durch ihre chemische Verwandtschaft mit dem Äthylenglykol, durch ihre Alkohol- und Aldehydgruppen eventuell ebenso wie Formaldehyd mit dem Schiff's Reagenz reagieren könnten:

Acetaldehyd	Dioxan
Äthanol	Formaldehyd
Benzaldehyd	Mannitol
1,4-Butandiol	Methanol
Diäthylenglykol	Propylenglykol

Hierzu wurde heparinisiertes Blut mit diesen Substanzen in einer Konzentration von jeweils 100 mg/100 ml versetzt und dann genauso weiterbehandelt wie das mit Äthylenglykol versetzte Blut in unserer Arbeitsvorlage.

Daß bei Formaldehyd eine vergleichbare Farbreaktion resultiert, ist verständlich, da Äthylenglykol bei der Nachweisreaktion in Formaldehyd überführt wird und so die Formaldehydkonzentration gemessen wird.

Weiterhin ergaben sich ähnliche Farbreaktionen bei Mannitol und bei Propylenglykol (auch beschrieben bei GILMOUR , 1974). Bei allen anderen überprüften Substanzen ergab sich keinerlei Farbreaktion.

Messungen der Äthylenglykolkonzentration können also bei der Anwesenheit von Formaldehyd, Mannitol und Propylenglykol im Blut verfälscht werden bzw. falsch positiv ausfallen.

Dabei ist zu beachten, daß gerade Mannitol oft zur Therapie von Vergiftungen als Diuretikum eingesetzt wird. Propylen-glykol dient in der Kunststoffindustrie als Ausgangsstoff für Polyester, Epoxidharze und Polyurethanschaumstoffe (BEYER, 1967).

6. Diskussion

Da die Eichkurve nicht nach dem Lambert-Beer'schen Gesetz verläuft und der mittlere Variationskoeffizient relativ hoch liegt (24% bei den Messungen 25 Minuten nach Ansatz, 14% bei den Messungen 40 Minuten nach Ansatz), kann man diese Methode des Nachweises von Äthylenglykol im Blut nur als h a l b - q u a n t i t a t i v bezeichnen.

Spezifisch ist die Nachweismethode nur, wenn man Formaldehyd, Propylenglykol und Mannitol im Blut ausschließen kann. Noch einmal muß betont werden, daß Mannitol gerade bei Äthylenglykolvergiftungen zur Therapie verwendet wird, um eine Ablagerung von Oxalatkristallen in den Nierentubuli zu verhindern (GILMOUR, 1974).

Der Vorteil der Methode liegt darin, daß der Reaktionsansatz in relativ kurzer Zeit zu fertigen ist, die Reagenzien leicht verfügbar sind, und im geringen Material- und Kostenaufwand.

Zu berücksichtigen ist jedoch die relative Unzuverlässigkeit des Schiff's Reagenz, welche aus der verschiedenen Qualität des Fuchsin und der unterschiedlichen Herstellungsweise des Reagenz' resultiert (SCOTT, 1945).

Zudem ist das Schiff's Reagenz nach meinen Erfahrungen und nach HARGER und FORNEY (1959) nur 2 bis 3 Wochen im Kühlschrank haltbar; KIVELA (1975) allerdings spricht von "einigen Monaten".

Dagegen konnte ich einen Konzentrationsabfall von Äthylenglykol bei gelagertem Blut (im Kühlschrank), wie von HARGER und FORNEY (1959) berichtet wird (in 12 Tagen ein Konzentrationsabfall von 385 mg/100 ml auf 80 mg/100 ml), in 18-tägigem Versuch mit Blut von vier verschiedenen Personen, denen Äthylenglykol in Mengen von 100 mg/100 ml zugefügt worden war, nicht bestätigen (nach 18 Tagen war die Extinktion die gleiche wie am Anfang).

Zutreffend scheint mir dafür die Aussage von KIVELA (1975) zu sein: "Wenn der Tod nach einer Äthylenglykolvergiftung um einige Tage hinausgezögert wird, wird die Äthylenglykolkonzentration im Blut sehr niedrig, in einigen Fällen kaum aufzuspüren sein. In diesen Fällen sollte die Konzentration der Oxalsäure bestimmt werden." (s.o. unter den Kapitel "Stoffwechsel")

Der Meßbereich der Methode liegt durchaus in dem klinisch relevanten Bereich, welcher sich mit größter Häufigkeit zwischen Konzentrationen von 10 und 150 mg/100 ml bewegt.

Qualitativ läßt sich Äthylenglykol im Blut mit dieser Methode sogar bis zu einer Konzentration von ca. 1 mg/100 ml, also 0,01 mg/ml nachweisen. Schließlich ist die Wiederfindungsrate von 100 ± 6 % als sehr hoch anzusehen.

Berücksichtigt man all diese Überlegungen, ist zu folgern, daß man auf diese Methode des Nachweises von Äthylenglykol im menschlichen Blut zurückgreifen kann, wenn keine aufwendigeren, aber sichereren Methoden zur Verfügung stehen, wie

etwa die Nachweisverfahren mittels Gaschromatographie.

Zu prüfen wäre noch, ob die Nachweismethode von RAJAGOPAL und RAMAKRISHNAN (1975), eine Farbreaktion mit Chromotropsäure, welche dem Lambert-Beer'schen Gesetz folgen soll, eher als quantitativ zu bezeichnen und spezifischer ist.

7. Literaturverzeichnis

1. AHMED, M.M.
Ocular effects of antifreeze poisoning
Br.J.Ophthalmol. 55, 854 (1971)
2. AQUINO, H.C.
Ethylene glycol poisoning: report of three cases
J. of the Kentucky Medical Ass. 70, 463 (1972)
3. BACHMANN, E., GOLBERG, I.
Reappraisal of the toxicology of ethylene glycol -
III. Mitochondrial effects
Food Cosmet.Toxicol. 9, 39 (1971)
4. BECKETT, S.D., SHIELDS, R.P.
Treatment of acute ethylene glycol (antifreeze)
toxicosis in the dog
J.Amer.Vet.Med.Ass. 158, 472 (1971)
5. BERMANN, L.B.
The nephrotoxic lesion of ethylene glycol
Ann.Intern.Med. 46, 611 (1957)
6. BEYER, H.
Lehrbuch der organischen Chemie
S. Hirzel Verlag Leipzig (1967)
7. BOLTZ, W.
Zur Kenntnis der subakuten Vergiftung mit Athylenglykol
Beiträge z. Gerichtl.Med. 22, 42 (1962)
8. BOVE, K.E.
Ethylene glycol toxicity
Amer.J.Clin.Path. 45, 46 (1966)
9. BOWES, J.H., CATER, C.W.
The interaction of aldehydes with collagen
Biochim, Biophys. Acta 168, 341 (1968)
10. BRICKER, C.E., LEE, J.K.
The determination of ethylene glycol in procaine
penicillin
J.Am.Pharm.Assoc. 41, 346 (1952)
11. BROWN, S.A. GETTLER, A.O.
A study of oxalic acid poisoning
Proc.Soc.Exp.Biol.Med. 19, 204 (1921)
12. BROWNING, E.
Toxicity and metabolism of industrial solvents.
Elsevier
Amsterdam-London-New York (1965)

13. COEN, G., WEISS, B.
Oxidation of ethylene glycol to glycoaldehyde by
mammalian tissues
Enz.Biol.Clin. 6, 288 (1966)
14. COLLINS, J.M.
Recovery after prolonged aliguria due to ethylene
glycol intoxication
Arch.Intern.Med. 125, 1059 (1970)
15. DE BREYER, I.J.J.
The effects of aldehydes on serotonin metabolism
in rat liver slices
Pharmacology 3, 85 (1970)
16. DESNUELLE, P., NAUDET, M.
Specific microcolorimetric method for the determination
of formaldehyde.
Bull.Soc.Chem.Biol. 12, 871 (1945)
17. DUNN, J.S.
Pathology of oxalate nephritis
J.Pathol.Bacteriol. 27, 299 (1924)
18. FLANAGAN, P., LIBCKE, J.H.
Renal biopsy observations following recovery from
ethylene glycol nephrosis
Am.J.Clin.Pathol. 41, 171 (1964)
19. FREDERICK, E.W.
Studies on primary hyperoxaluria
N.Engl.J.Med. 269, 821 (1963)
20. FRIEDMAN, E.A.
Consequences of ethylene glycol poisoning
Am.J.Med. 32, 891 (1962)
21. GALLYAS, F.
Acute renal failure following ethylene glycol poisoning
Acta Chir.Acad.Sci.Hung. 12, 225 (1971)
22. GESSNER, P.K.
Studies in detoxication - The metabolism of ¹⁴C-labelled
ethylene glycol
Biochem. J. 79, 482 (1961)
23. GIBBS, D.A., WATTS, R.W.E.
The action of pyridoxine in primary hyperoxaluria
Clin.Sci. 38, 277 (1970)
24. GILMOUR, I.J.
Letter: Mannitol gives false - positive biochemical
estimations of ethylene glycol
N.Engl.J.Med. 291, 51 (1974)

25. GIROMINI, M.
Acidose métabolique par intoxication à l'antigel
(éthylène glycol)
Schweiz.Med.Wschr. 94, 1687 (1964)
26. GOLDSTEIN, D.B., PAL, N.
Comparison of pyrazole and 4-bromopyrazole as inhibitors
of alcohol dehydrogenase: Their potency, toxicity and
duration of action in mice.
J.Pharmacol.Exp.Ther. 178, 199 (1971)
27. GUTMAN, R.A.
Letters to the editor: recovery after prolonged oliguria
Arch.Intern.Med. 126, 914 (1970)
28. HAGEMANN, P.O., CHIFFELLE, T.R.
Ethylene glycol poisoning
J.Lab.Clin.Med. 33, 573 (1948)
29. HAGGERTY, R.H.
Toxic hazards: deaths from permanent antifreeze ingestion
N.Engl.J.Med. 261, 1296 (1959)
30. HARGER, R.N., FORNEY, R.B.
A simple method for detecting and estimating ethylene
glycol in body materials; analytical results in six
fatal cases
J.Forensic Sci. 4, 136 (1958)
31. HAGSTAM, K.E.
Ethylene glycol poisoning treated by hemodialysis
Acta Med.Scand. 178, 599 (1965)
32. JAIN, N.C., FORNEY, R.
I. Sunshine, Methodology for Analytical Toxicology
CRC PRESS, Cleveland, Ohio (1975)
33. JOLY, J.B.
Intoxication grave par l'éthylène glycol chez un enfant
de 6 ans.
La Presse Médicale 75, 2041 (1967)
34. KAHN, H.S., BROTHNER, R.J.
A recovery from ethylene glycol (antifreeze) intoxi-
cation: a case of survival and two fatalities from ethy-
lene glycol including autopsy findings.
Ann.Intern.Med. 32, 284 (1950)
35. KIVELA, E.W.
Ethylene Glycol - Type B Procedure
Methodology for Analytical Toxicology
I. Sunshine, CRC PRESS, Cleveland, Ohio (1975)
36. KLAMERTH, O.L.
Influence of glyoxal on cell function.
Biochim. Biophys. Acta 155, 271 (1968)

37. KUN, E.
A study on the metabolism of glyoxal in vitro
J.Biol.Chem. 194, 603 (1952)
38. LABORIT, H.
Activité nerveuse centrale et pharmacologie générale
comparée du glyoxylate, du glycolate et du glycoalaldéhyde
Agressologie 12, 187 (1971)
39. LAMOTHE, C.
Action de l'acide glyoxylique, de l'acide glycolique et
du glycoalaldéhyde in vivo et in vitro sur quelques étapes
du métabolisme énergétique de soupes de cortex cérébral,
de foie, et de myocarde de rat
Agressologie 12, 233 (1971)
40. LEVY, R.I.
Renal failure secondary to ethylene glycol intoxication
J.A.M.A. 173, 1210 (1960)
41. LI, T., THEORELL, H.
Human liver alcohol dehydrogenase: inhibition by
pyrazole and pyrazole analogs
Acta Chem.Scand. 23, 892 (1969)
42. LIEBER, C.S.
Effects of pyrazole on hepatic function and structure
Lab.Invest. 22, 615 (1970)
43. LUDEWIG, R., LOHS, K.H.
Akute Vergiftungen
VEB Gustav Fischer Verlag, Stuttgart (1977)
44. MC CHESNEY, E.W.
Reappraisal of the toxicology of ethylene glycol -
II. Metabolism studies in laboratory animals
Food Cosmet. Toxicol. 9, 21 (1971)
45. MOESCHLIN, S.
Klinik und Therapie der Vergiftungen
Georg Thieme Verlag, Stuttgart (1964)
46. MORIARTY, R.W.
The spectrum of ethylene glycol poisoning
Clin.Tox. 7, 583 (1974)
47. MUNDY, R.L.
Pyrazole as an antidote for ethylene glycol poisoning
Toxicol.Appl.Pharmacol. 28, 320 (1974)
48. NAKADA, H.I., WEINHOUSE, S.
Studies of glycine oxidation in rat tissues
Arch.Biochem.Biophys. 42, 257 (1953)

49. NEWMAN, H.W.
Comparative effects of propylene glycol, other glycols
and alcohol on the liver directly
J.Pharmacol.Exp.Ther. 68, 194 (1940)
50. NUNAMAKER, D.M.
Treatment of ethylene glycol poisoning in the dog
J.Am.Vet.Med.Assoc. 159, 310 (1971)
51. OETTINGEN, W.F., JIROUCH, E.A.
The pharmacology of ethylene glycol and some of its
derivatives in relation to their chemical constitution
and physical chemical properties
J.Pharmacol.Exp.Therap. 42, 355 (1931)
52. OLIVA, P.B.
Lactic acidosis
Am.J.Med. 48, 209 (1970)
53. PARRY, M.F., WALLACH, R.
Ethylene glycol poisoning
Am.J.Med. 57, 143 (1974)
54. PETERSON, R.L., RODGERSON, D.O.
Gas-chromatographic determination of ethylene glycol
in serum
Clin.Chem. 20, 820 (1974)
55. PONS, C.A., CUSTER, R.P.
Acute ethylene glycol poisoning
Am.J.Med.Sci. 211, 544 (1946)
56. RAJAGOPAL, G., RAMAKRISHNAN, S.
A new method for estimation of ethylene glycol in
biological material
Anal.Biochem. 65, 132 (1975)
57. ROBERTS, J.A., SIEBOLD, H.R.
Ethylene glycol toxicity in the monkey
Toxicol.Appl.Pharmacol. 15, 624 (1969)
58. ROSCHER, A.A.
A new histochemical method for the demonstration of
calcium oxalate in tissues following ethylene glycol
poisoning
Am.J.Clin.Pathol. 55, 99 (1971)
59. ROSS, I.P.
Ethylene glycol poisoning with meningoencephalitis
and anuria
Brit.Med.J. 1, 1340 (1956)
60. SANYER, J.L.
Systematic treatment of ethylene glycol toxicosis in dogs
Am.J.Vet.Res. 34, 527 (1973)

61. SCOTT, F.C.
Analyst 70, 374 (1945)
62. SEIFF, L.B.
Ethylene glycol poisoning
Med.Ann.DC 39, 31 (1970)
63. SMITH, L.H.
Oxalate and glycolate synthesis by hemic cells
J.Lab.Clin.Med. 78, 2 (1971)
64. SYNKOWSKI, P.
Ethylene glycol toxicity
Am.J.Ophth. 34, 1599 (1951)
65. TROISI, F.M.
Chronic intoxication by ethylene glycol vapour
Brit.J.Industr.Med. 7, 65 (1950)
66. UNDERWOOD, F., BENNETT, W.M.
Ethylene glycol intoxication, Prevention of renal
failure by aggressive management
J.Am.Med.Ass. 226, 1453 (1973)
67. VAN STEE, E.W.
The treatment of acute ethylene glycol toxicosis with
pyrazole
Toxicol.Appl.Pharmacol. 29, 98 (1974)
68. WILEY, F.H.
The formation of oxalic acid from ethylene glycol and
related solvents.
J.Industr.Hyg.Toxicol. 20, 269 (1938)
69. WILLIAMS, H.E., SMITH, L.H.
Disorders of oxalate metabolism
Am.J.Med. 45, 715 (1968)
70. WILLS, J.H.
Inhalation of aerosolized ethylene glycol by man
Clin.Toxicol. 7(5), 463 (1974)
71. WIRTH, W.
Toxikologie-Fibel
Georg Thieme Verlag, Stuttgart (1967)

Lebenslauf

7. 2. 53 geb. in Coburg
Eltern: Karl Oppel, Rosa Oppel, geb. Grimm
59 - 63 Volksschule in Coburg
63 - 65 Gymnasium Ernestinum in Coburg
65 - 72 Musisches Gymnasium Albertinum in Coburg
23.6.72 Reifeprüfung
2.73-4.74 Zivildienst
5.74-6.80 Studium der Humanmedizin an der Friedrich-Alexander-
Universität in Erlangen
10.4. 80 Dritter Teil des schriftlichen Staatsexamens
19.5. 80 Mündliche Staatsexamensprüfung

Danksagung

Ich möchte mich bedanken bei Herrn Professor Dr. H.-B. Wuermeling für die Arbeitsmöglichkeit in seinem Institut und die Übernahme des Korreferates, bei Frau Professor Dr. Dr. Geldmacher - v.Mallinckrodt für die stetige Beratung und die Übernahme des Referates.

Copy - Center 2000

852 ERLANGEN · Obere Karlstr. 30
Tel. 09131-26197